Aus dem Hygienischen Institut
der Westf. Wilhelms-Universität zu Münster i. Westf.
(Direktor: Prof. Dr. K. W. Jötten)

Ueber Geisselfärbungen

unter besonderer Berücksichtigung einer neuen — von Sampedro angegebenen Methode.

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER
ZAHNÄRZTLICHEN DOKTORWÜRDE
DER HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT DER
WESTFÄLISCHEN WILHELMS-UNIVERSITÄT
ZU MÜNSTER (WESTF.)

vorgelegt und verfaßt von

Hedwig Feldhuss
aus Herten i. Westf.

1934

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei Robert Kleinert, Quakenbrück.

Referent: Prof. Dr. K. W. Jötten,
Dekan: Prof. Dr. Klinge.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Meinem Vater in Dankbarkeit!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555428_0101

Ueber Geisselfärbungen unter besonderer Berücksichtigung einer neuen, von Sampedro angegebenen Methode.

Als die Bakterien entdeckt waren und man bei näherer Untersuchung feststellte, daß sie nicht tote, leblose Gebilde waren, tauchte auch die Frage nach der Ursache ihrer Beweglichkeit auf. Bei der Untersuchung der äußeren Form der Bakterien stellte man — zunächst nur bei besonders großen Spirillen — fest, daß sie als Anhang einen oder mehrere wellenförmig gekrümmte Protoplasmafäden besaßen: Die sogenannten Geisseln. Diese Geisselfäden wurden dann bald als die eigentlichen Bewegungsorgane der Bakterien angesehen, und da war es zunächst Robert Koch im Jahre 1877, der es versuchte, auch an kleinen und kleinsten Individuen diese Bewegungsorgane zu entdecken. Er stellte bald fest, daß dies nur durch besonders geeignete Färbung möglich sein würde. — In der Folgezeit beschäftigten sich dann noch eine Reihe anderer Autoren wie Löffler, Peppler, Zettnow u. a. mit der Geisseldarstellung. — Neuerdings — November 1932 — veranlaßten die Schwierigkeiten und zum Teil Unsicherheiten des Gelingens, brauchbare Darstellungen von Geisseln zu erhalten, Sampedro-Mexiko zu einer neuen Geisselfärbemethode.

Die Untersuchung, welche Bakterien Geisseln besitzen, ergab, daß im allgemeinen alle beweglichen Bakterien begeisselt sind, denn die Geisseln als solche sind es, die den Bewegungsapparat der Bakterien ausmachen. Dabei ist zu unterscheiden, ob die Bakterien eine Eigenbeweglichkeit — die echte — aufweisen oder ob es sich um die „Brownsche Molekular-Bewegung“ handelt. Also: Nur die begeißelten Bakterien besitzen die echte Beweglichkeit. — Begeisselt sind fast alle Spirochaeten, viele Bakterienarten und eine geringe Anzahl von Kokken. Als Organismen mit besonders starker Eigenbeweglichkeit haben sich hauptsächlich folgende erwiesen: Heu — Proteus — Typhus — Cholera — Coli und Tetanus. A. Meyer und D. Ellis haben behauptet,

daß sogar alle Bakterien in einer gewissen Entwicklungsphase beweglich auftreten und Geisseln besitzen. Bisher aber ist dies von anderer Seite nicht bestätigt worden. — Andererseits hat A. Fischer bei tadellos ausgebildeten Geißeln oft keine Eigenbewegung feststellen können und hat ferner die Ueberzeugung gewonnen, daß die gleiche Art Bakterien mit und ohne Geißeln auftreten kann.

Der Nachweis von Geisseln ist von besonderer Bedeutung für die Differentialdiagnose mancher Bakterien. Lehmann-Neumann geben darüber folgendes an: „Es wurde z. B. ein Typhus-Bazillus, der mehrere (bis zu 12) seitliche Geisseln zählen kann, verwechselt mit einem aus dem Typhusstuhl isolierten Bakterium, bei dem die Indolprobe auch negativ war. Man untersuchte das Bakterium nun auf die Zahl seiner Geisseln und stellte fest, daß es (anfangs hatte man es für einen Typhus-Bazillus gehalten) nur eine Polgeissel trug, also kein Typhus-Bazillus sein konnte.

Man ist dazu übergegangen, die Bakterien nach Zahl und Anordnung der Geisseln zu klassifizieren, dabei nennt man:

1. Monotricha = Bakterien mit einer Polgeissel;
2. Lophotricha = Bakterien, die ein Büschel von Geisseln an einem Pol tragen;
3. Amphitricha = Bakterien, die an jedem Pol eine Geissel aufweisen;
4. Peritricha = Bakterien, die viele Geisseln rings um den Bakterienkörper haben.

Bunge schreibt allerdings, daß dieses Einteilungsprinzip, welches von Messae stammt, nach neueren Untersuchungen unhaltbar sei. Er sagt: „Um für die Unzulänglichkeit dieser Einteilung ein Beispiel anzugeben, erwähne ich den Kommabazillus. Derselbe hat in Kulturen auf künstlichem Nährboden gewöhnlich eine Geissel, bei manchen Epidemien aber fand man 1—4. Das wichtigste aber ist die Angabe von Klein, daß man bei Färbungen von Organismen direkt aus dem Choleradarm die Kommabazillen bald als Monotrichen, bald als Lophotrichen und selbst als Peritrichen findet. Wir können doch nicht Kommabazillen aus dem Darm derselben Leiche in der Klassifikation voneinander trennen."

Die Ansichten, woher die Geisseln stammen, sind stark auseinandergehend. Fuhrmann u. a. nehmen an, daß es Protoplasmafortsätze sind, die durch Lücken innerhalb der Membran hindurchgewachsen sind. Wieder andere Autoren neigen der Ansicht zu, daß die Geisseln aus dem Ektoplasma, der Außen-

hülle der Bakterien, stammen, also Anhänge der Bakterienmembran sind. Wer Geisseln gefärbt hat, weiß, daß am äußersten Ende der feinen Zilien sich bisweilen körnchenartige Verdickungen finden. Dieses spricht für die Annahme von Fuhrmann, daß die Geisseln aus dem Protoplasma stammen. Man könnte es sich etwa so erklären: Die im Innern des Protoplasma sitzenden Körnchen — in sehr vielen Bakterien finden sich schon in ganz jungen Zellen ein oder mehrere deutlich sichtbare helle Körnchen — werden beim Hindurchwachsen der Protoplasmafortsätze (= Geisseln) durch die Membran vor ihnen hergeschoben und haften am Ende der Geisseln. Fuhrmann hält sie für ein Chromatinkorn, welches sich an der Spitze einer jeden Geissel vorfindet. — Zettnow schreibt über das Zustandekommen der Geisseln folgendes: „Ob die Geisseln mit dem Plasma in Zusammenhang stehen und mit einem Basalkorn versehen sind, also die Membran durchsetzen, oder aber an dieser entspringen, darüber herrscht unter den Bakteriologen noch keine Einigkeit. In Geisselpräparaten, gleichgültig ob stark oder schwach gefärbt, sieht man sie stets nur vom Ektoplasma ausgehend. Wenn es auch vielleicht unüberwindliche Schwierigkeiten verursacht, bei stark begeisselten Bakterien, wie Proteus vulgaris für jede einzelne Geissel einen solchen Zusammenhang mit dem Plasma zu erkennen, so sollte man doch annehmen, daß es gelingen müßte, bei den starken Geisselbüscheln, wie sie Spirillum voluntans zeigt, einen solchen Zusammenhang deutlich nachzuweisen, und zwar regelmäßig und nicht nur in Ausnahmefällen wie Ellis und A. Meyer berichten."

Welche Annahme über den Ursprung der Geisseln auch immer die zutreffende sein mag, jedenfalls aber charakterisieren sich die Geisseln aus einer anderen Substanz bestehend als der Bakterienleib selbst. Im Gegensatz zum Bakterium sind die chemischen und physikalischen Beschaffenheiten der Geisseln so, daß sie eine geringe Farbstoffaffinität aufweisen.

Die Geisseln selbst sind schraubenförmig gewunden, bei Spirillen haben sie 1—2 Windungen, bei Vibrionen 1—3 und bei Bazillen schwanken die Windungen zwischen 4—7. Beim bac. prot. vulg. sind die Windungen deshalb nicht so stark schraubenförmig, weil er zu sehr begeisselt ist und daher für jede einzelne Geissel nicht Platz genug vorhanden wäre. Sie stehen dicht gedrängt, — ihre Zahl kann 60—100 betragen — und geben ihm das Aussehen eines Federbartes. — Reichert hat bei seinen Beobachtungen im Dunkelfeld festgestellt, daß die Geisseln in der Bewegung stets nach rückwärts gerichtet sind, und der

Bakterienleib selbst sich immer etwas nach rückwärts umbiegt.

Die Schnelligkeit der Bewegung ist verschieden groß. Z. B. ist sie beim Choleravibrio größer als beim Typhusbazillus. Eingehende Studien darüber machten Gabritschewsky, Lehmann und Stigell. Zu diesem Zweck haben sie Zeitmessungen angestellt, in der ein Bakterienindividuum im Okularmikrometer eine bestimmte Zahl von Teilstrichen passierte. Absolute Zahlen waren schwer festzulegen, da die Bewegungsgeschwindigkeit abhängig ist vom Medium, in dem das Bakterium gezüchtet wurde. Außerdem waren Fehlerquellen, wie etwa Strömungen, Erschütterungen, Bewegungen beim Abimpfen etc. nicht zu vermeiden. Lehmann und Fried fanden für Choleravibrionen in 7—8 Stunden alter Bouillonkultur bei der Untersuchung im hängenden Tropfen eine Bewegungsgeschwindigkeit von 0,03 mm in der Sekunde; bei Typhusbakterien 0,018 mm pro Sekunde; für Subtilis 0,01 mm pro Sekunde; Megatherium 0,0075 mm pro Sekunde. Dabei haben sie Anaerobier in kleinen Kammern, die durch Pyrogallol und Natronlauge sauerstofffrei gemacht werden, auf die Schnelligkeit ihrer Bewegung untersucht. Es zeigte sich zwischen aaerobem und anaerobem Tetanus kein wesentlicher Unterschied in der Geschwindigkeit. Choleravibrionen bewegen sich manchmal zu schnell für eine Bestimmung, doch zeigen sie eine Durchschnittsgeschwindigkeit von 18 cm pro Stunde. Noch kleinere Werte errechnete Stigell, der 5tägige Kulturen in 1%igem Kaliumnitrat benutzte, ein Beweis also, daß die Beweglichkeit in älteren Kulturen abnimmt. Dieser Umstand ist für die Geisselfärbung überhaupt von besonderer Bedeutung: Je jünger die Kulturen, umso bessere Resultate werden erzielt. — Bei der Beweglichkeit der Bakterien wirken chemische Stoffe richtunggebend, sie wirken anziehend oder abstoßend und beeinflussen sowohl die echte als auch die Brownsche Molekularbewegung.

Die Länge der Geisseln ist sehr verschieden; manchmal sind es kurze Fäden, manchmal sind sie so lang wie der Bazillenleib selbst, oft sogar übertreffen sie diesen an Länge noch bei weitem. Ihre Dicke schwankt zwischen 0,02 und 0,03. Moore schreibt über die Länge, Zahl und Art der Geisseln: „Die Länge der Geisseln ist am größten bei den Hogcholera-Bazillen, am geringsten bei den Typhus-Bazillen, während die Coli-Bazillen in der Mitte stehen. Die durchschnittliche Anzahl der Geisseln ist am kleinsten beim bac. coli: 1,8—2,6 Geisseln im Durchschnitt pro Bazillus; Hogcholera-Bazillen 3,1—3,3, beim Typhusbaz. 2,6—3,5. Die Geisseln beim Typhus-Bazillus rollen sich am Ende oft auf

und bilden hier Ringe, was bei den anderen angegebenen Arten nicht der Fall ist. Absolute Werte über Länge und Zahl der Geisseln sind deshalb nicht anzugeben, weil sich in ein und demselben Präparat oft große Verschiedenheiten zeigen. Bei allen drei angegebenen Individuen ist die Dicke der Geisseln die gleiche."

Während bei der Färbung die Bakterienleiber als solche aufquellen, — es schlägt sich an ihnen Farbe nieder — behalten die Geisseln ihre natürliche Dicke bei, denn da sie, wie schon erwähnt, eine geringe Farbstoffaffinität besitzen, nehmen sie keine Farbe an. Aus dem Grunde ist auch jeder bisher unternommene Versuch, feine und feinste Geisseln künstlich voluminöser zu machen, um sie dem Auge besser sichtbar zu gestalten, erfolglos geblieben.

Man hat bisher eine Reihe von Methoden zum Nachweis der Geisseln ausfindig gemacht, von denen aber hier nur die gebräuchlichsten besprochen werden sollen. Es sind das die Färbemethoden von Peppler, Löffler und Zettnow.

Peppler bedient sich zum Beizen der Präparate einer Tannin-Chromsäurelösung und zum Färben einer konzentrierten alkoholischen Gentianaviolettlösung.

Löffler stellt eine Beize her aus 20%iger Tanninlösung, vermischt mit Eisenvitriollösung und alkoholischem Fuchsin. Die Färbung geschieht bei ihm mittels einer Anilinwasserfuchsinlösung mit einem Zusatz von 1%igem NaOH.

Zur Darstellung der Geisseln durch Silbersalze ist von allen angegebenen Methoden die Zettnowsche bisher die erfolgreichste gewesen, was in der Literatur auch immer wieder betont wird. Zettnow bedient sich einer Antimonbeize. Zur Färbung benutzte er eine Aethylaminsilberlösung. —

Die neueste Methode, Geisseln zu färben, ist wohl diejenige, welche Dr. José Sampedro angegeben hat. Sie wurde im September 1932 im „Boletin del Instituto de Higiene, Popotla (Mexiko)" veröffentlicht. Zum Beizen benutzt er eine Mischung von Tanninlösung, ein Eisensol und ein Silbersol. Sein Färbemittel besteht aus einer Mischung von Fuchsinlösung, Anilinöl und Essigsäure.

Meine Aufgabe bestand nun darin, die neue Sampedro-Methode zu prüfen und sie mit den bereits bekannten Methoden zu vergleichen.

Wenn ich nun zur Beschreibung der von mir unternommenen Versuche zur Geisseldarstellung übergehe, so hebe ich von vorn-

herein hervor, daß es bei allen Manipulationen in der Färbemethode nötig war, sich auf das Probieren zu verlassen, bestimmte Angaben sind nicht zu machen, da jeder Organismus sich anders verhält. Um gute Resultate zu erzielen, läßt es sich nicht umgehen, die in der Literatur angegebenen Wege mehr oder weniger zu modifizieren. Zunächst sind bei allen Methoden unbedingt ganz reine und neue Objektträger bzw. Deckgläser zu benutzen. Sie müssen frei von auch nur der geringsten Fettspur sein, und falls die Gläser nicht neu sind und irgendwelche Kratzer aufweisen, erscheinen letztere unterm Mikroskop und man wäre geneigt, sofern sie zufällig mit dem Bakterienleib in Zusammenhang stehen, sie für Geisseln zu halten — oder wenn sich die Kratzer verstreut umherliegend zeigen, sie für abgerissene Geisseln zu halten.

Zum Reinigen meiner Objektträger habe ich mich an die von Sampedro angegebene Methode gehalten, der diese 48—72 Stunden in Salpetersäure legt, dann reichlich in Leitungswasser abspült und schließlich zur Aufbewahrung in eine Mischung gleicher Teile Chloroform, Alkohol und Benzin bringt. Unmittelbar vor dem Gebrauch habe ich sie mit der Pinzette aus der Flüssigkeit genommen, damit sie keine Fettspuren der Hände annahmen; getrocknet, über einem Drahtnetz abgeflammt und nach dem Erkalten mit nichtfasernder Leinwand abgeputzt. — Zettnow kocht die Gläser, um sie zu entfetten, in HCL-Lösung, legt sie längere Zeit in Alkohol und putzt sie je nach Bedarf, — eine Methode, die, wie ich festgestellt habe, ebenso gut ist.

Ich stellte mir zunächst die verschiedenen Beizen- und Farblösungen her. Bei der Anfertigung der Zettnowschen Antimonbeize habe ich besonders darauf geachtet, daß bei der frisch hergestellten Beize nur ein schwacher Hauch von Fluoreszens sichtbar war. Sobald die Beize ein gewisses Alter hat, wird sie dunkler und trüber, was aber auf die Güte der Geisselpräparate, wie ich feststellen konnte, keinen Einfluß hat.

Von der Vorbehandlung der Bakterien ist die Technik ebenfalls von Wichtigkeit. Ich wußte aus der Literatur über Geisseln, daß außer durch Abwerfen von ausgebildeten Geisseln auch bewegliche Bakterien auftreten können, die generationsweise geisellos sind. Darum vergewisserte ich mich jedesmal vorher von der Beweglichkeit der Bakterien im hängenden Tropfen.

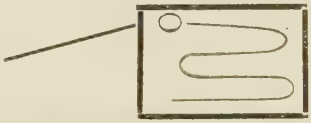
Ueber die Technik der Bakterienentnahme ist in der Literatur eine Reihe von Wegen angegeben. Ich bin darin besonders bei der Zettnowschen Methode mit folgenden Manipulationen zum Ziel gelangt:

Von einem festen Nährboden schwemmt man die Bakterien mit 4%igem Formalin ab, ohne dabei ein Instrument (Oese) zu gebrauchen, da dadurch die zarten Geisseln zu leicht abgerissen werden können. Es genügt ein vorsichtiges Schütteln der über die Kultur gegossenen Flüssigkeit. Es ist gut, bei der Kultur vorher für etwas Kondenswasser zu sorgen, da dies beim Abspülen mit der Formalinlösung mit abgeschwemmt wird. Diese Bakterienabschwemmung bringt man in ein stark zugespitztes Zentrifugenröhrchen und stellt es aufrecht hin. Man läßt die Abschwemmung ganz ruhig stehen und wartet ab, bis sich die Bakterien gesetzt haben, was bisweilen eine Reihe von Tagen dauert. Bei Heubazillen und Proteus habe ich immer zuerst einen Bodensatz erzielt, wesentlich länger dauerte es bei Cholera- und Colibazillen. Man gießt nun vorsichtig die oben stehende Flüssigkeit ab und übergießt das Sediment mit 1%igem Formalin. Man schüttelt die Bakterien langsam und vorsichtig auf. Ich betone dabei immer eine ganz zarte Behandlung der Bakterien, da andernfalls die Geisseln zu leicht verletzt oder in falsche Richtung zum Bakterienleib gebracht werden, oder gar abreißen. Das Abwerfen der Geisseln ist übrigens typisch für ältere Kulturen. Man findet sie dann zahlreich frei im Präparat umherliegend. Neumann hat den Vorgang des Abwerfens mehrfach im Dunkelfeld beobachtet und erklärt es sich so: Mit zunehmendem Alter werden die Geisseln starrer und verlieren damit ihre Eigenbeweglichkeit, während aber der Bazillus selbst weiter rotiert und dadurch schließlich die Geisseln vom Körper abschnürt. Hierbei wird die Geissel an der Abschnürungsstelle nach und nach dünner und länger, bis der Faden endlich so dünn wird, daß er abreißt. Oder aber: Der Bazillus schwimmt an einer freiliegenden Geissel vorüber, wird durch den Strudel in Rotation versetzt, die Geisseln verfangen sich und reißen ab.

Bevor ich nun die Vorbehandlung der Bakterien zur Geisseldarstellung weiter schildere, noch kurz einiges über den bac. proteus, der einer besonderen Vorbereitung bedarf, und bei dem ich auf folgende Weise die besten Resultate erzielte: Ich nahm ein frisches Schrägagarröhrchen mit möglichst viel Kondenswasser, beimpfte nur das obere Drittel des Agar und ließ das Röhrchen 12—16 Stunden stehen. Hatte ich also die Kultur am Abend angelegt, war sie am nächsten Morgen gebrauchsfähig. Der Proteus breitete sich während der Nacht über den ganzen Agar bis zum Kondenswasser aus. Das Kondenswasser muß möglichst klar sein, also nicht getrübt durch zu starke Vermehrung der Bazillen. War letzteres der Fall, so habe ich nur ca. ½ Oese voll zum

Ueberimpfen genommen. Erst die so hergestellte Kultur schwemmte ich in Formalin ab, ließ absitzen usw.

Nun zurück zur Vorbehandlungstechnik der Bakterien im allgemeinen. Nachdem mit 1%igem Formalin abgeschwemmt ist, ließ ich wieder gut absitzen, wenn nötig wiederum mehrere Tage. Ich habe wiederum langsam und vorsichtig abgegossen und überschüttete nun das Sediment mit physiologischer NaCl-Lösung. Die Vorbehandlung der Bakterien ist damit beendet und man kann jetzt dazu übergehen, Präparate anzufertigen. Auf die peinlichst sauberen Deckgläschen bringt man je eine Oese der Bakterienaufschwemmung und verstreicht folgendermaßen:



Man läßt die Deckgläschen so rasch wie möglich trocknen, möglichst an der Luft oder auf einem Kupferblechöfchen. Niemals darf man zu stark erhitzen, da man die zarten Geisseln zu leicht absengen kann. Nun beizt und färbt man die Präparate nach der bekannten Zettnow-Methode in Blockschälchen mit Antimonbeize und nach gutem Abspülen mit Atylaminsilberlösung.

Ich habe die Technik der Bakterienvorbehandlung deshalb geschildert, weil ich bei meinen eigenen Untersuchungen auf diese modifizierte Form der Zettnow-Methode gekommen bin und erst auf diese Weise gute Resultate erzielt habe.

Ich beschreibe nun einige meiner Geisselpräparate: Bei einem Proteusbazillus fand ich sehr schön ausgeprägte Geisseln in peritricher Anordnung. Wenn Pijper 1930 nachzuweisen versuchte, daß Proteus nicht peritrich begeisselt ist, so steht dies im Gegensatz zu dem, was sich in meinem Geisselpräparat vorfand. Der Bazillus selbst erscheint wie mit einem dichten Bart rings um seinen Körper herum. An vielen Individuen spalten sich am Ende die Geisseln gabelförmig auf. An den Enden mancher Geisseln sah ich im Mikroskop körnchenartige Verdickungen. Ich habe versucht, die Geisseln zu zählen und bin bei dem kleinsten Individuum, das sich im Präparat vorfand, bis auf ca. 80 gekommen. — Ferner gelang es mir, aus der Mundflora eines Neugeborenen Coli zu züchten und erfolgreich auf Geisseln zu färben. Der Mundhöhle entnommen, wurde es mit vielen anderen Bakterien auf Endoagar gebracht, isoliert und auf Schrägagar überimpft. Gefärbt, erzielte ich schöne gegeisselte Präparate. Die Geisseln selbst zeigten sich manchmal wesentlich länger als der Bakterien-

leib und auf anderen Präparaten wieder wie kurze Fäden. Manchmal erschienen die Geisseln besonders dick, es waren dann immer mehrere Geisseln, die sich zu einem Zopf verflochten hatten. Wieder andere, ganz isoliert liegende Individuen waren von ihren Geisseln vollkommen umschlungen und stellten sich als lockenknäulartiges Gebilde dar. — Tetanus besitzt in der Regel mehrere von seinen abgerundeten Enden abgehende Geisseln, die auch gewöhnlich etwas, selten bedeutend länger sind als der Bazillus selbst. Manchmal sollen die Geisseln auch an der Längsseite des Bazillenleibes entspringen, was aber auf meinen Präparaten nicht feststellbar war. — In manchen Präparaten fand ich neben gut begeisselten Organismen auch noch frei im Blickfeld umherliegende Geisselspuren vor. Der Grund hierfür wird später noch angegeben.

Nach den Methoden von Löffler und Peppler habe ich nur einige schwach positive Resultate erzielt, vollkommen negativ waren die Ergebnisse immer bei Typhus.

Ich wandte mich nunmehr der Sampedro-Geisselfärbemethode zu, die, wie er sagt, rasch, leicht und sicher sein soll. Er schreibt darüber: „Die Geisselfärbung ist in technischer Hinsicht außerodentlich schwierig. Ein Beweis dafür ist, daß es so viele und immer wieder neue Methoden gibt, bei der aber in der Handhabung die eine noch schwieriger als die andere ist. Sie alle erfordern die größte Aufmerksamkeit und verlangen, daß man sich mit ihnen ganz vertraut macht."

Wie die andern Autoren, so empfiehlt auch Sampedro eine möglichst junge Kultur. Er bringt — im Gegensatz zu den anderen — eine Oese Kultur in ein Reagenzglas mit Leitungswasser, weil, wie er sagt, „in destilliertem Wasser größere osmotische Veränderungen zwischen diesen und den Bakterien hervorgerufen werden, die das Bakterium sicher in nachteiliger Weise beeinflussen". — Damit die Keime vollkommen isoliert sind, wendet Sampedro eine von E. W. Maneval angegebene Methode an: Auf einen Objektträger bringt er 4 Tropfen Leitungswasser in einem Abstand von einem cm. Er nimmt einen Tropfen der angegebenen Bakterienaufschwemmung und tupft, ohne die Oese neu zu füllen, nacheinander in die 4 Tropfen. Getrocknet werden dann die Objektträger in einer zugedeckten Petrischale über einer ganz leichten Spiritusflamme. —

Die Technik der Färbung bei Sampedro ist zwar leicht, doch ist die Herstellung besonders der von ihm angegebenen Beize — sie allein besteht aus drei verschiedenen Lösungen:

Tanninlösung, Eisensol und Silbersol, die in einem bestimmten Verhältnis gemischt werden — garnicht so einfach. Er selbst sagt in bezug auf die Beize: „Wir haben eine Unzahl von Beizen ausprobiert, bis wir eine verhältnismäßig leicht herstellbare Beize mit sicheren Ergebnissen gefunden haben.“ Zudem war in der Angabe der Silbersollösung sowohl im Präparat als auch im Original eine Ungenauigkeit darüber, wieviel 1%iger Höllensteinlösung man benötigt. Dadurch waren anfangs keine befriedigenden Resultate zu erzielen. Durch Ausprobieren habe ich folgendes festgestellt: Zu 1 g 1%iger Höllensteinlösung gibt man 50—70 cbcm H_2O, dann setzt man Ammoniakhydratlösung solange zu, bis der Niederschlag verschwindet, und füllt dann auf 100 cbcm mit H_2O auf. — Man muß die Beize eine Reihe von Tagen reifen lassen, bevor sie gebrauchsfähig ist. Dagegen ist die Beize selbst nur von einer beschränkten Haltbarkeit. Wenn man also nicht in der Lage ist, die Geisselfärbung rasch hintereinander vornehmen zu können, muß man sich immer wieder der nicht geringen Mühe, neue Lösungen herzustellen, unterziehen. Die Zeit, die zum Beizen der Präparate erforderlich ist — Sampedro gibt einen Zeitraum an, der zwischen 2 und 10 Minuten schwankt — läßt sich nur von Fall zu Fall durch Ausprobieren feststellen. — Wenn man gebeizt hat, färbt man die Präparate 4—5 Minuten mit der von ihm angegebenen Farblösung.

Bei allen Präparaten — ich habe hauptsächlich Cholera, Typhus, Proteus, Heu und Coli zur Geisselfärbung nach Sampedro benutzt — beobachtete ich immer wieder einen mehr oder weniger dicken Farbniederschlag, der das Präparat unschön und teilweise auch zweifelhaft erscheinen ließ. Ich habe es — entgegen Sampedros Angabe — mit einer kürzeren Einwirkungszeit der Farblösung versucht, trotzdem aber hatte ich meistens ein wenig schönes Resultat. Um den Farbniederschlag zu vermeiden, habe ich es ferner mit einer schwächeren Farblösung versucht, als die Vorschrift es bestimmt, doch wurden auch damit die Ergebnisse nicht wesentlich besser.

Man kann bei der Sampedro-Methode nicht damit rechnen, daß in ein und demselben Präparat alle Bakteriengeisseln sichtbar sind. Ich habe festgestellt, daß sich am Rand eines jeden Tropfens ein heller Ring zeigte, in dem die Bakterien mit ihren Geisseln besonders hervortraten, und zwar in den meisten Fällen in dem Tropfen, in welchen man die Oese mit der Bakterienaufschwemmung zuerst eingetaucht hatte.

Zwar hat die Sampedro-Methode in technischer Hinsicht den Vorteil, daß sie im Gegensatz zu den anderen Methoden

rasch und leicht zu handhaben ist; dafür aber sind die Resultate, die erzielt werden, nicht so gut wie etwa die bei Zettnow.

Proteus.

Methode	Zahl der Untersuchungen	Positive Resultate	Negative Resultate	Bemerkungen
Zettnow	30	25	5	viel besonders schöne Präparate
Sampedro	30	15	15	starker Farbniederschlag

Heu.

Methode	Zahl der Untersuchungen	Positive Resultate	Negative Resultate	Bemerkungen
Zettnow	30	25	5	viel besonders schöne Präparate
Sampedro	30	25	5	isolierte Geisseln und starker Farbniederschlag

Cholera.

Methode	Zahl der Untersuchungen	Positive Resultate	Negative Resultate	Bemerkungen
Zettnow	30	15	15	viel isolierte Geisseln
Sampedro	30	15	15	starker Farbniederschlag

Typhus.

Methode	Zahl der Untersuchungen	Positive Resultate	Negative Resultate	Bemerkungen
Zettnow	30	12	18	viel isolierte Geisseln
Sampedro	30	6	14	dicker Farbniederschlag

Aus den Tabellen geht hervor, daß nach der Zettnowschen Geisselfärbemethode die meisten positiven Resultate erzielt werden. Bei 120 Untersuchungen waren nach Zettnow 77 positiv und 61 positiv nach der Sampedro-Methode. Andererseits aber ist auch ersichtlich, daß die Präparate nach Sampedro an Klarheit und Eindeutigkeit nicht einwandfrei sind. Zettnow weist immer die bestgelungensten Geisselfärbungen auf. Ferner sieht man, daß bei den vorgenommenen Untersuchungen Heu- und Proteusbazillen, also die stark begeisselten Organismen, am günstigsten für die Geisseldarstellung sind. Geisseln von Choleravibrionen sind zwar auch gut darstellbar — wiederum besonders gut nach Zettnow —, jedoch zeigen hier die Geisseln die meiste Neigung, vom Bakterienkörper abzureißen

Zusammenfassung.

Mit den Methoden zum Nachweis von Geisseln haben sich bisher schon eine Reihe von Forschern beschäftigt, und immer wieder neue Möglichkeiten zum Geisselfärben wurden gefunden. Dieses beweist, daß die Methoden immer noch nicht vollkommen sind, und daß es in technischer Hinsicht außerordentlich schwierig ist, Geisseln darstellbar zu machen. Die Schwierigkeiten und Fehlerquellen liegen zunächst darin, daß die Bakterien ihre Eigenschaft, Geisselträger zu sein, sehr leicht verlieren können; ferner in der Handhabung der Bakterienentnahme von dem betreffenden Agar und der Auswahl und Anwendung der geeigneten Beizen und Farbstoffe- und schließlich in der Launenhaftigkeit der bestehenden Geisseldarstellungsmethoden überhaupt, die regelmäßige Erfolge nicht zulassen will. Da manche geisseltragende Bakterien generationsweise auch geissellos auftreten können, ist eine vorherige Untersuchung der Beweglichkeit im hängenden Tropfen erforderlich. Die Klassifikation nach Messae in Monotrichia, Amphitricha, Lopho- und Peritricha, ferner die praktische Bedeutung, die der Geiseslfärbung insofern zukommt, als es möglich sein soll, mit ihrer Hilfe Differentialdiagnosen zu stellen, ist nur relativ zu bewerten, denn in ein und demselben Präparat zeigen sich in bezug auf Zahl und Anordnung der Geisseln oft große Verschiedenheiten. —

Die neue Methode zur Geisseldarstellung von Sampedro, die, wie er sagt, rasch, leicht und sicher sein soll, hat in Bezug auf vereinfachte Handhabung Vorteile, doch sind die Resultate, die mit dieser neuen Methode erzielt werden, nicht so gute wie

beispielsweise mit der bereits von Zettnow angegebenen Methode. Die Präparate zeigen durch zu starke Farbniederschläge stets eine Verunreinigung.

Wenn man es nicht bei der bewährten Geisseldarstellung nach Zettnow bewenden lassen will, — sie ist in ihrer Anwendung allerdings etwas schwierig —, so müßte man Mittel und Wege ausfindig machen, um die Mängel, die in bezug auf gute Geisselfärbung immer noch bestehen, zu beseitigen.

Gern erfülle ich zum Schluß dieser Arbeit die angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. K. W. Jötten zu danken für die freundliche Ueberlassung des Themas und zugleich für den liebenswürdigen Beistand, den er mir bei der Deutung der Präparate zuteil werden ließ. Ferner spreche ich Herrn Dr. med. Replon meinen herzlichen Dank aus für die zahlreichen Anregungen, die er mir in bezug auf die Ausführung meiner Arbeit gegeben hat.

Literaturangabe.

Böker-Kaufmann: Herstellung und Anwendung von Farblösungen, Fixationsmitteln, Schnittpräparaten. Bakt. Diag., S. 31, Verlag: Julius Springer, Berlin 1931.

Bunge: Zur Kenntnis der geisseltragenden Bakterien. Fortschritte der Med., Jg. 1894, S. 653.

Bunge: Ueber Geisselfärbung von Bakterien. Fortschritte der Med., Jg. 1894, S. 462.

Eisenberg: Theorie der Bakterienfärbung. Handb. d. Mikrobiolog. Tech., Bd. I, S. 161. Verlag: Urban-Schwarzenberg, Berlin-Wien 1923.

Ficker: Methoden der Geissel-, Kapsel- und Sporenfärbung. Nadb. d. Mikrobiolog. Techn., Bd. I, S. 329. Verlag: Urban-Schwarzenberg, Berlin-Wien 1923.

Giemsa: Methoden zur Färbung von Protozoen. Handb. d. Mikrobiolog. Techn., Bd. I, S. 358. Verlag: Urban-Schwarzenberg, Berlin-Wien 1923.

Klimmer: Geisselfärbung. Techn. u. Methodik d. Bakt. u. Serologie, S. 144.

Klimmer: Die Färbeverfahren. Technik u. Methodik d. Bakt. u. Ser., S. 114. Verlag: Julius Springer, Berlin 1923.

Kisskalt-Hartmann: Geisselfärbung. Prakt. d. Bakt. u. Protoz., S. 80.

Kisskalt-Hartmann: Geisseln. Prakt. d. Bakt. u. Protoz., S. 68. Verlag: Fischer, Jena 1923.

Kolle-Wassermann: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Atlas. Zusammengestellt v. Zettnow. Verlag: Gustav Fischer, Jena 1902.

Levinthal: Eine neue Technik der Beweglichkeitsprüfung an lebenden Bakterien. Koch-Flügge, Ztschr. f. Hyg., S. 140.

Lehmann-Neumann: Die Leistungen der Bakterien, insbesondere im Hinblick auf die Verwendung derselben zu diagnostischen Zwecken. Bakt. Diagn., Bd. I u. II, Text u. Atlas, S. 57. Verlag: J. F. Lehmann, München 1926.

Lehmann-Neumann: Einführung in die Morphologie der Spaltpilze. Bakt. Diagn., Bd. I u. II, Text u. Atlas, S. 3. Verlag: J. F. Lehmann, München 1926.

Messae: Cintributione allo studio della ciglia dei batterie a proposta di una classificazione. Hyg. Rundsch., Bd. I, Jg. 1891, S. 297.

Moore: On the nature of the flagella and their value in the systematic classification of bacteria. Ztrbl. f. Bakt. u. Parasytenk., Bd. XX, Jg. 1896, S. 452.

Moore: The Character of the flagella on the Bacillus cholera suis (Salomon and Smith) Bacillus Coli Communis (Escherich) and the Bacillus Thyphi abdominalis (Eberth). Ztrbl. f. Bakt. u. Parasytenk., Bd. XVIII, Jg. 1895, S. 754.

Neumann: Die Sichtbarmachung der Bakteriengeisseln am lebenden Objekt im Dunkelfeld. Ztrbl. of Bakt. u. Parasytenk., Bd. 96, Jg. 1925, S. 250.

Pijper: Nochmals über die Begeisselung von Typhus- und Proteusbazillen. Ztrbl. f. Bakt. u. Parasytenk., Bd. 123, Jg. 1932, S. 195.

Pijper: Begeisselung von Typhus- und Proteusbazillen. Ztrbl. f. Bakt. u. Parasytenk., Bd. 118, Jg. 1930, S. 113.

Salus: Bestimmung der Größe der Mikroorganismen, Bakterienvermehrung und -beweglichkeit. Hdb. d. mikrobiolog. Techn., Bd. II, S. 1110.

Salus: Allgemeines über die Bestimmung der Mikroorganismen. Hdb. d. mikrobiolog. Techn., Bd. II, S. 1059. Verlag: Urban u. Schwarzenberg, Berlin-Wien 1923.

Sampedro: Ueber ein leichtes und sicheres Verfahren der Geisselfärbung. Ref. v. Richter-Glindow. Ztrbl. f. Bakt. u. Parasytenk., Bd. 112, Nr. 23/24.

Sampedro: Acera de un procedimiento facil y seguro para coloration de flagelos. Boletin del Instituto de Higiene del Departemento de Salubridad Publica. Popotla (Mexiko), S. 139, Secunda Epoca, Nr. 4.

Seitz: Allgemeine Morphologie der Bakterienorganismen. Bakt. f. Zahnärzte, S. 1. Verlag: Walter de Gruyter u. Co., Berlin u. Leipzig 1930.

Votteler: Ueber die Differentialdiagnose der pathologischen Anaeroben durch die Kultur auf Schrägagar und durch ihre Geisseln. Koch-Flügge, Zeitschr. f. Hyg., Bd. 27, S. 480.

Yokota: Ueber Untersuchung zur Kenntnis der Bakteriengeisseln. Ztrbl. f. Bakt. u. Parasytenk., Bd. 95, Jg. 1925, S. 261.

Zeißler: Die Technik der Anaerobenzüchtung. Hdb. d. Mikrob. Techn., Bd. II, S. 961. Verlag: Urban-Schwarzenberg, Berlin-Wien 1923.

Zettnow: Kleine Beiträge zur Morphologie der Bakterien. Koch-Flügge, Ztschr. f. Hyg., Bd. 85, S. 17.

Zettnow: Romanowski's Färbung bei Bakterien. Koch-Flügge, Ztschr. f. Hyg., Bd. 30, S. 1.

Zettnow: Ueber Geisselfärbung bei Bakterien. Koch-Flügge, Ztschr. f. Hyg., Bd. XXX, S. 95.

Lebenslauf.

Geboren am 18. 2. 1902 zu Herten i. Westf. als Tochter des Amtstierarztes Heinrich Feldhuss zu Herten i. Westf. und seiner Frau Mathilde geb. Brinkmann, besuchte ich die Volksschule daselbst und das Lyzeum zu Recklinghausen i. Westf. Nachdem ich die Obersekundareife erlangt hatte, unterbrach ich meine Schulausbildung für mehrere Jahre. — Im Jahre 1930 bestand ich auf dem Realgymnasium der Ursulinen zu Haselünne i. Hannover mein Abitur. Ich studierte darauf Zahnheilkunde zunächst in Tübingen und Leipzig. In Leipzig legte ich meine zahnärztliche Vorprüfung ab und bezog darauf die Universitäten München und Münster. In Münster beendete ich mein Studium mit dem zahnärztlichen Staatsexamen, welches ich im Dezember 1934 ablegte.